# VORKOMMEN UND VERBREITUNG VON ADENOVIREN BEI GESUNDEN UND AN ENZOOTISCHER PNEUMONIE ERKRANKTEN SCHWEINEN

Heinz Philipp

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548328_0049

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten
der Tiere der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. A. Mayr

# VORKOMMEN UND VERBREITUNG VON ADENOVIREN BEI GESUNDEN UND AN ENZOOTISCHER PNEUMONIE ERKRANKTEN SCHWEINEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Heinz Philipp
aus
Komotau

München 1969

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. I. Gylstorff
Referent: Prof. Dr. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. E. Dahme

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 12. II. 1970

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK · 8000 München 13 · Telefon 52 46 07

# INHALTSVERZEICHNIS


| | Seite |
|---|---|
| A) EINLEITUNG | 1 |
| B) SCHRIFTTUM | 3 |
| I. Charakteristika der Adenoviren | 3 |
| II. Die Adenoviren des Schweines | 7 |
| III. Adenoviren als Erreger respiratorischer Erkrankungen | 10 |
| IV. Die "enzootische Pneumonie", - Diskussion ätiologischer Faktoren | 14 |
| C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 19 |
| I. Material und Methoden | 19 |
| 1.) Auswahl des Tiermaterials | 19 |
| 2.) Gewinnung und Behandlung des Untersuchungsmaterials | 20 |
| a) Nieren und Lungen | 20 |
| b) Serum | 21 |
| 3.) Gewebekulturzüchtung | 21 |
| a) Primärkulturen | 21 |
| b) Subkulturen | 23 |
| 4.) Viruszüchtung | 24 |
| a) Methoden der Anzucht | 24 |
| aa) Subkultivierungsverfahren | 24 |
| ab) Adsorptionsverfahren | 24 |
| ac) Organverreibungen | 25 |
| b) Weiterzüchtung in Kälbernierenkulturen | 25 |
| c) Virustitrierungen | 25 |
| 5.) Spezifitätsprüfungen | 26 |
| a) Chloroformtest | 26 |
| b) Histologische Untersuchungen | 27 |
| c) Komplementbindungsreaktion | 27 |
| d) Elektronenoptische Untersuchung | 27 |

Seite

6.) Serumneutralisationstest 27

7.) Bakteriologische Prüfung 28

II. Versuche und Ergebnisse 29

1.) Untersuchung der Seren von Schweinen verschiedenen Alters auf neutralisierende Adenovirusantikörper 29

2.) Isolierung von Adenoviren aus den Nieren von Schweinen 32

3.) Isolierung von Adenoviren aus Lungen von Schweinen 34

4.) Charakterisierung der isolierten cytopathogenen Agentien als Adenoviren durch Chloroformtest, Einschlußkörperchennachweis und Komplementbindungsreaktion (KBR) 36

D) BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 40

E) ZUSAMMENFASSUNG 47

F) LITERATURVERZEICHNIS 50

## A) EINLEITUNG

Seit ihrer Entdeckung vor etwa 15 Jahren sind die Adenoviren immer mehr in den Mittelpunkt virologischer Forschungsarbeit gerückt. Es konnte nachgewiesen werden, daß Adenoviren beim Menschen weit verbreitet sind. In den letzten Jahren gelang ihre Isolierung auch bei Tieren. Der Affe, das Rind, das Schwein, der Hund, die Maus und das Geflügel können Träger von Adenoviren sein.

In der Regel neigen diese Viren zu klinisch inapparenten Infektionen, wobei sie meist in den lymphatischen Organen persistieren. Erst zusätzliche schädigende Einflüsse wie Stress, schlechte Haltung oder Sekundärinfektionen lassen Adenoviren manifest werden.

Beim Schwein konnten Adenoviren bisher aus dem Gehirn, der Lunge, den Tonsillen, den Nieren, den Hoden und aus dem Darm angezüchtet werden. Spezifische Krankheiten, die durch sie ausgelöst werden, sind bei Schweinen bis heute noch nicht bekannt. An der Entstehung von sogenannten Faktorenseuchen, besonders denen des Respirations- und Darmtraktes, ist ihre Beteiligung möglich.

Die Schweinebetriebe in Deutschland verändern sich immer mehr in Richtung Großbetrieb. In diesem sind für die Ausbreitung einer Virusinfektion die besten Voraussetzungen anzutreffen, darum erlangt das Wissen um den Infektionsstatus größerer Tierpopulationen immer mehr Bedeutung.

Aufgabe dieser Arbeit war es, Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung von Adenoviren bei gesunden Schweinen, sowie an enzootischer Pneumonie erkrankten Ferkeln durchzuführen. Von

besonderem Interesse war, wie oft und wie stark sich Schweine verschiedenen Alters mit Adenoviren auseinandergesetzt haben. Es sollte ferner festgestellt werden, in welchem Alter Ferkel besonders wenige Antikörper gegen Adenoviren haben, d.h. in welcher Zeitspanne die Tiere besonders empfänglich für dieses Virus sind.

Da beim Menschen und neuerdings auch beim Rind Zusammenhänge zwischen Adenoviren und Erkrankungen des Respirationstraktes nachgewiesen wurden, galt die besondere Aufmerksamkeit bei dieser Untersuchung möglichen Beziehungen zwischen Adenoviren und der enzootischen Pneumonie des Schweines. Es ist zu diskutieren, ob Adenoviren, wenn auch nicht ursächlich, so vielleicht unter Mitbeteiligung, bei der Entstehung der enzootischen Pneumonie eine Rolle spielen.

# B) SCHRIFTTUM

## I. Charakteristika der Adenoviren

Die Adenoviren (35) gehören zu den Desoxyribonukleinsäure-(DNS)-haltigen Viren. Es sind mittelgroße, nur aus DNS und Protein bestehende Partikel, die eine Größe von etwa 60 - 85 mμ haben (98). Die DNS ist dabei in einem Doppelstrang angeordnet und bildet mit zwei Proteinarten das Virion. Das eine Protein hat ein Molekulargewicht von ungefähr 300 000 und wird den Kapsomeren zugeordnet. Das Zweite, dessen Bedeutung noch nicht ganz geklärt ist, besitzt ein Molekulargewicht von etwa 70 000 (73). Das Viruskapsid ist kubisch aufgebaut (Ikosaeder mit 5-3-2 Symmetrie) und hat 252 Kapsomeren. Die Adenoviren haben keine Hüllen (58, 95). Da sie nur aus Eiweiß und Nukleinsäure bestehen und ihnen ein Lipoidanteil fehlt, verhalten sie sich gegenüber Äther und Chloroform stabil. Die Adenoviren sind sehr beständig bei Temperaturen unter 4°C. Bei höheren Wärmewerten verlieren sie schnell ihre Infektiosität und werden bei 56°C und höher zunehmend rasch inaktiviert. Gegenüber pH-Wert-Veränderungen sind sie relativ unempfindlich (58, 98).

Die Adenoviren kommen in zahlreichen Sero-Typen vor. Gemeinsam ist ihnen aber ein gruppenspezifisches, lösliches Antigen (S-Antigen). Dieses läßt sich in der Komplementbindungsreaktion und in der Agargel-Präzipitation nachweisen. Den Adenoviren des Geflügels fehlt dieses Antigen. Das gruppenspezifische Antigen soll mit den Kapsomeren identisch sein. Bei einigen Typen ist daneben über besondere Methoden noch ein typenspezifisches, lösliches Antigen nachweisbar (70, 111).

Außer den Adenoviren der Maus und des Geflügels besitzen alle

anderen Arten hämagglutinierende Eigenschaften für bestimmte Erythrozyten (98, 102, 103). Hämagglutinin und komplementbindendes Gruppenantigen werden parallel zum infektiösen Virus gebildet (128).

VALENTINE und PEREIRA (119) beschreiben am Beispiel des Adenovirus Typ 5 die drei Antigene A, B und C. A stellt einen zylindrisch bis runden Körper mit einem Durchmesser von 80 Å dar. B besteht aus einem runden Kopf (80 Å ∅) verbunden mit einem 200 Å langen und 20 Å breiten Fortsatz, der an seinem Ende eine 40 Å große Kugel hat. Antigen C gleicht Antigen B, es fehlt ihm aber das kugelförmige Ende. Antigen A bildet die 240 Kapsomeren des Virions, die an den Seitenflächen liegen. Die restlichen zwölf, an den Ecken des Virions lokalisierten Kapsomeren werden von dem Antigen B gebildet. Antigen C entsteht, wenn Trypsin den Kopf von Antigen B verdaut (42, 119).

Alle Adenoviren besitzen außerdem eine durch fraktionierte Ultrazentrifugierung vom Virus abtrennbare toxische Komponente. Sie sedimentiert langsamer als das Virus. Bei einer Temperatur von 60°C, bei der das Virus schon inaktiviert wird, bleibt das Toxin noch stabil. Erst wenn es eine halbe Stunde lang einer Temperatur von 70°C ausgesetzt wird, verliert es seine Wirksamkeit. Das Toxin wird als Ribonuklein angesprochen (96, 101).

Bis jetzt unterscheidet man sieben Untergruppen der Adenoviren, die nach ihrem natürlichen Wirt benannt werden. Es sind die Adenoviren des Menschen, des Affen, des Rindes, des Schweines, der Maus, des Hundes und des Geflügels (98, 101).

Unter natürlichen Bedingungen sind Adenoviren wirtsspezifisch. Lediglich einige experimentelle Übertragungen humaner Typen auf Tiere sind bisher gelungen. Einzelne Typen verursachen beim spf-Schwein (spf = specific pathogen free) eine Bronchopneumonie (9). Bei sechs

Rindern verschiedenen Alters, die mit Adenoviren des Menschen Typ 1 infiziert worden waren, gelang die Reisolierung des Virus in zwei Fällen, der Antikörpernachweis nur einmal (7). Schließlich verursachen bestimmte Adenoviren von Mensch und Rind bei neugeborenen Hamstern, intrapulmonal verimpft, maligne Tumoren. Beim Menschen lassen sich Antikörper gegen die Adenoviren des Rindes und des Affen nachweisen (7, 104). Von großer Bedeutung für experimentelle Arbeiten mit Adenoviren ist ihr breites Zellspektrum. Für ihre Züchtung wurde eine große Anzahl verschiedener stabiler Zellinien verwendet:

| | |
|---|---|
| HeLa, FL-Zellen | (FOGH et al.) |
| KB-Zellen | (DOSSENA 1961) |
| Detroit-b-Zellen | (CICHOLSKA und GEORGIALES) |
| HEp-2-Zellen | (GODMANN et al.) |
| MAS-Zellen | (KJÈLLEN 1961) |
| SOT-Zellen | (KLISENKO) |
| Maben-Zellen | (HANNA undJAWETZ) |

Daneben eigneten sich auch primäre Nierenkulturen von Rhesus-Grivet-Affen, von Kaninchen, Schweinen, Hunden, Katzen und Meerschweinchen. Außerdem werden in der Literatur noch Kulturen menschlicher Amnionzellen, Schilddrüsenzellen, Tonsillengewebe, primärer embryonaler Hühnerlungenzellen als geeignete Anzuchtsysteme genannt (30, 100).

In infizierten Gewebekulturen tritt neben Zellveränderungen, die durch die cytotoxische Komponente verursacht werden, ein cytopathogener Effekt (cpE) auf. Dieser ist durch eine Granulierung und Abkugelung der infizierten Zellen charakterisiert. Bei Hellfeldmikroskopie lebender, ungefärbter HeLa-Kulturen, die mit Adenoviren infiziert sind, unterscheidet WIGAND et al. (126) drei Arten des cpE: den Rundzelltyp, den Retraktionstyp und den Sondertyp. Bei den Untersuchungen ver-

schiedener Adenovirustypen ergibt sich ein konstantes Verhalten hinsichtlich ihres cytopathogenen Effekts. Die Bedeutung dieses Befundes zur Typisierung wird dadurch abgeschwächt, daß der cpE vom benutzten Zellstamm und von dessen physiologischem Status abhängig ist. Eine genaue Diagnose einer Adenovirusinfektion allein anhand der cytopathogenen Veränderungen ist nicht möglich (104, 126).

Eine wichtige Eigenschaft der Adenoviren, die ihre Identifizierung wesentlich erleichtert, ist die Bildung von intranukleären, Feulgen--positiven Einschlußkörperchen (Typ B). Man findet kurz nach der Infektion im Zellkern zunächst eosinophile, Feulgen-negative Einschlüsse. Im weiteren Verlauf entstehen im Kern eosinophile, Feulgen-positive Einschlußkörperchen, die infektiöses Virus enthalten. Sie werden mehrere My groß und können daher mit dem Lichtmikroskop nachgewiesen werden (16, 17, 20, 54).

## II. Die Adenoviren des Schweines

Seit HAIG 1964 über die Isolierung eines Adenovirus aus dem Kot von Schweinen berichtete (49), erschienen mehrere Arbeiten, die sich mit der Untergruppe der Schweineadenoviren (85) befaßten. Ein Jahr später konnten mit Hilfe der Subkultivierungstechnik Adenoviren aus den Nieren gesunder Schlachtschweine isoliert werden (12). KASZA (64) züchtete 1966 aus dem Gehirn eines zehn Wochen alten Ferkels, das enzephalitische Erscheinungen zeigte, ein Virus an, das Eigenschaften der Adenoviren aufwies. Es wurde aber nicht von Antiseren humaner Typen und auch nicht durch Serum gegen Hepatitis contagiosa canis (63) neutralisiert. Die Neutralisation gelang nur mit homologem Immunserum. Das Virus wurde als Schweineadenovirus typisiert (64). Mit Hilfe histologischer Verfahren wiesen KÖHLER et al. Adenoviren in Schweinenierenprimärkulturen nach (72). Im Zusammenhang mit Untersuchungen über das Schweinepestvirus wurde über die Isolierung von Adenoviren berichtet (13, 59).

Die Typisierung der isolierten Viruspartikel erfolgte im allgemeinen biologisch, elektronenoptisch und histologisch. Es konnte dabei gezeigt werden, daß sie in ihrem Aufbau und ihrem Verhalten den übrigen Adenoviren gleichen (22, 59, 79, 85).

Ihre Tenazität wurde an Kulturstämmen geprüft. Dabei erwiesen sie sich als äußerst beständig bei Temperaturen von -20 bis -65 $^{o}$C; bei Kühlschranktemperatur von 4 $^{o}$C waren sie noch nach zwei Monaten infektiös. Höhere Temperaturen griffen zunehmend die Infektiosität an. Nach 30 Minuten Inkubation bei 56 $^{o}$C wurden sie inaktiviert. Durch Gefriertauen trat ein signifikanter Titerabfall ein. Auch das Schweineadenovirus verhielt sich in weiten pH-Bereichen stabil (25, 55).

Die Adenoviren des Schweines besitzen das für die Adenovirusgruppe spezifische, gemeinsame Antigen. Es reagiert in der Komplementbindungsreaktion mit Immunseren gegen Adenoviren des Menschen und verschiedener Tierarten (12, 64). Im übrigen lassen sich aber die Adenoviren des Schweines als Untergruppe serologisch einwandfrei von den anderen Adenoviren abgrenzen (85). Sie scheinen für ihre Subgruppe spezifische Antigene zu besitzen. HORZINEK und ÜBERSCHÄR (59) beschrieben z.B. bei Schweinen einen für Schweineadenoviren spezifischen, präzipitierenden Antikörper. Ferner werden Adenoviren des Schweines durch Antiseren humaner Adenoviren nicht oder nur schwach neutralisiert.

In verschiedenen Gewebekulturen kommt es bei der Vermehrung dieser Viren zu einem cytopathogenen Effekt und zur Bildung von intranukleären Einschlußkörperchen. Einen deutlichen Effekt findet man in Nierenzellkulturen des Schweines, des Kalbes und des Menschen. Auch in Ferkelhodenkulturen sowie in "canine melonina" Zellkulturen können Zellveränderungen beobachtet werden (64, 85). Der cytopathogene Effekt beginnt in der Regel mit einer feinen Granulierung und Vakuolisierung des Cytoplasmas an Einzelbezirken und breitet sich dann mehr und mehr über die ganze Kultur aus. Nach 1 - 2 Tagen setzt in den zunehmend abkugelnden und degenerierenden Zellbezirken Lysis ein. Ausbildung und Stärke des cpE scheinen vom physiologischen Status der Gewebekultur abzuhängen. Sekundärkulturen reagieren empfindlicher als Primärkulturen (12).

Histologisch erscheinen in infizierten Kulturzellen nach einer Hypertrophie des Zellkernes zahlreiche kleine Granula, die später zu intranukleären Einschlußkörperchen reifen. Dabei wird die Kernmasse schrittweise dichter und die Kernmembran löst sich ab. Zum Schluß dieser cytopathogenen Veränderungen kann man Ka-

ryorrhexis und -lysis beobachten. Die Nukleoli bleiben bei diesen Vorgängen im Einschlußkörperchen oder werden zum Rand abgedrängt. Kerneinschlüsse dieser Art geben eine positive Feulgenreaktion, die eine Anhäufung von Desoxyribonukleinsäure andeutet. Die Einschlußkörperchen färben sich zudem mit "SHORR's tripl stain" orange. Die akridin-orange Fluorchrom-Färbung zeigt eine Ansammlung von gelb-grünem Granula im Kern, was ebenfalls auf eine Desoxyribonukleisäure-Zunahme und damit auf die intranukleäre Virusvermehrung hinweist (64, 86).

## III. Adenoviren als Erreger respiratorischer Erkrankungen

Adenoviren sind vor allem beim Menschen öfter die Ursache von Erkrankungen an den oberen Luftwegen. Dabei ist nicht nur das adenoide Gewebe im Hals betroffen, sondern es kommt zur Erkrankung der gesamten Luftwege, einschließlich der Bronchien. Den Adenovirusinfektionen des Menschen werden verschiedene Krankheitsbilder zugeordnet, die man im allgemeinen als uncharakteristische, akute respiratorische Erkrankung, als pharyngo-konjunktivales Fieber, als nicht durch Streptokokken hervorgerufene exudative Pharyngitis und als primäre, atypische Pneumonie bezeichnet (62).

Die Adenoviren besitzen eine relativ hohe Infektiosität. Ihre Ausbreitung erfolgt einmal durch Tröpfcheninfektion, zum anderen durch Schmierinfektionen, aber auch direkt oder indirekt über infiziertes Konjunktivalsekret (128).

Der erste Virusstamm, der mit einer menschlichen Erkrankung in Zusammenhang gebracht werden konnte, war der Stamm RI 67 (respiratory illness 67). Er wurde aus der Rachenspülflüssigkeit eines Patienten mit primärer, atypischer Pneumonie isoliert (56).

ROWE und Mitarbeiter fanden 1953 in Kulturen von menschlichen Tonsillengeweben ein Agens, das einen cytopathogenen Effekt verursachte. Die Filtrierbarkeit und das Fehlen der Kultivierungsmöglichkeit auf Bakteriennährböden verwiesen dieses Agens in den Bereich der Viren. Es wurde AD-Agent (adenoid degeneration agent) genannt (105). Dieses Virus hatte vieles mit einer Virusgruppe gemeinsam, die HUEBNER und seine Mitarbeiter unter der Bezeichnung "adenoidal-pharyngeal-conjunctival agents (APC-Agens)" zusammenfaßten (60).

Nachdem die Zusammengehörigkeit des AD-Agens, des RI-Agens und

des APC-Agens erkannt worden war, gab man dieser Virusgruppe am 25. Mai 1956 den Namen "Adenoviren" (35).

In den folgenden Jahren konnten aus der Rachenspülflüssigkeit und aus dem Nasensekret von Patienten mit respiratorischen Erkrankungen häufig Adenoviren isoliert werden (10, 61, 120). Obwohl die meisten Menschen Infektionen mit Adenoviren durchmachen, werden normalerweise nur 2 - 3 % der akuten Erkrankungen des Respirationstraktes durch diese Viren hervorgerufen. In den meisten Fällen verlaufen diese Infektionen also inapparent. In militärischen Einheiten ist die Häufigkeit von adenovirusbedingten, respiratorischen Affektionen allerdings groß.

In den USA wurde zeitweise eine trivalente Vaccine hergestellt, die beim Menschen zur Bildung neutralisierender Antikörper und zur Ausbildung einer Immunität führte. Der Impfstoff wurde aber 1964 aus dem Handel gezogen, da er mit Papova-$SV_{40}$ - Virus verunreinigt war (62).

Auch beim Tier sind Erkrankungen des Respirationstraktes, die durch Adenoviren hervorgerufen werden, beschrieben worden. Pathologische Veränderungen wurden jedoch bisher meist über Experimente demonstriert. Es lassen sich aber ebenfalls Zusammenhänge zwischen Adenoviren und Affektionen des Respirationstraktes erkennen. Bestimmte, ätiologisch in fester Beziehung zu Adenoviren stehende Krankheiten, sind allerdings noch nicht bekannt. In der Regel persistieren diese Viren still im Organismus und können erst im Rahmen sogenannter Faktorenseuchen klinisch manifest werden.

Erstmals gelang es BETTS et al. 1962 mit einem Adenovirus vom Menschen makroskopische Veränderungen, in Form einer Bronchitis und Alveolitis, mit peribronchialen und perivaskulären Anhäufungen

von Monozyten in Ferkellungen zu erzeugen. Ebenso konnten histologische Veränderungen der Bronchiallymphknoten in Form einer Hyperplasie beobachtet werden (9). Bei Kälbern mit Virusdiarrhoe wurden von BARTHA et al. aus der Lunge, dem Darminhalt und dem Nasenausfluß Adenoviren isoliert. Die Stämme erwiesen sich jedoch im Übertragungsversuch auf gesunde Kälber als avirulent (4). Ein Jahr später gelang den gleichen Autoren die erneute Isolierung von Adenoviren bei Kälbern mit Pneumonie und Enteritis. Im Übertragungsversuch konnten die respiratorisch-enteritischen Symptome diesmal reproduziert werden (1).

DARBYSHIRE und PEREIRA untersuchten im Neutralisationstest gegen einen bekannten Adenovirusstamm die Seren von 135 Rindern mit respiratorischem Krankheitsbild. Dabei fanden sie einen hohen Prozentsatz positiv reagierender Seren. Sie neigen deshalb zu der Annahme, daß beim Ausbruch respiratorischer Erkrankungen des Rindes ein Adenovirus beteiligt sein könnte (28).

Mit bovinen Adenoviren infizierten DARBYSHIRE et al. (26) Kälber am Tage nach der Geburt intranasal und weitere Tiere 24 Stunden später intratracheal. Die Kälber erhielten kein Kolostrum. Innerhalb einer Woche erkrankten alle Tiere an Fieber und hatten zugleich schleimigen, nasalen und konjunktivalen Ausfluß. Bei der Sektion fand man Lungenveränderungen in Form von Verdichtungen, Kollaps und Emphysem begleitet von einer Lymphadenitis der Lungenlymphknoten. Histologisch lag als Primäraffekt eine proliferative Bronchiolitis vor. Die für das Adenovirus typischen, intranukleären Einschlüsse waren in der Lunge, in den Tonsillen, in der Trachealschleimhaut und in den Lymphknoten. Das Virus konnte auch aus verschiedenen Organen reisoliert werden (26).

Beim Geflügel ist ein ähnliches Krankheitsbild bekannt, dessen Ursache Adenoviren sind. Die Adenoviren des Huhnes, CELO-Viren (Chicken-

Embryo-Lethal-Orphan) genannt, verursachen bei der Wachtel eine oft tödlich verlaufende Bronchitis, die Quail-Bronchitis (101).

## IV. Die "enzootische Pneumonie", - Diskussion ätiologischer Faktoren

Die enzootische Pneumonie, die auch als Ferkelgrippe, Schweinegrippe oder Viruspneumonia of pigs = VPP, sowie Swine enzootic pneumonia = SEP bezeichnet wird, ist eine weit verbreitete hoch kontagiöse Krankheit der Schweine.

Sie befällt junge Tiere im Alter ab etwa drei Wochen, kann aber auch bei älteren Tieren auftreten (5, 101). Nach GLÄSSER (38) trifft man sie in zwei Formen an, einmal in einer milderen, die Tiere aller Altersklassen, vor allem aber Schweine in größeren Mästereien befällt, zum anderen als schwerere Form bei jüngeren Tieren. Im allgemeinen neigt die enzootische Pneumonie zu einem chronischen Verlauf, dessen Schwere von Faktoren wie Sekundärinfektionen, Fütterung und Haltung beeinflußt wird (117).

Die volkswirtschaftliche Bedeutung dieser Schweinekrankheit ist groß. Die durch sie entstehenden Schäden sind weniger durch Todesfälle als durch die reduzierte Gewichtszunahme verursacht. Die Futterverwertung ist etwa um 20 % herabgesetzt (36, 118). Allerdings wurde in Versuchen festgestellt, daß diese Ausfälle bei extrem guten Fütterungs- und Haltungsbedingungen günstig zu beeinflussen sind (37). In akut verseuchten Schweinebeständen dominieren die klinischen Symptome, die den Respirationstrakt betreffen. Sie bestehen meist aus einem wochenlangen, trockenen Husten, der hauptsächlich nach dem Auftreiben der Tiere zu beobachten ist. Nasenausfluß, Zunahme der Atemfrequenz und Dikrotie sind weitere klinische Erscheinungen (112). Oft ist zudem eine ausgeprägte Konjunktivitis zu finden. Im fortgeschrittenen Stadium wirkt sich die Krankheit auf den ganzen Organismus aus. Durch verminderte Fresslust und schlechte Futterverwertung werden die Tiere zu "Kümmerern". Diese unterscheiden sich von gesunden Tieren durch einen unterentwickelten Körper,

rauhes Haarkleid und schmutzige, graue Haut; Juckreiz ist nicht zu beobachten. Bei Saug- und Absatzferkeln fällt die Unausgeglichenheit des Wurfes besonders auf (5). Tiere, die die Krankheit überstanden haben, bleiben auch weiterhin ansteckungsfähig. Sie stellen damit eine große Gefahr für andere, gesunde Schweine dar.

Der Sektionsbefund der enzootischen Pneumonie bietet makroskopisch das Bild der katarrhalischen Bronchopneumonie. Spitzen-, Herz- und Anhangslappen werden dabei bevorzugt befallen. Die Lungenveränderungen bestehen anfangs aus einer stärkeren Rötung der betroffenen Läppchen, die sich später in derbe, graugelbe Bezirke verwandeln. In den Bronchien wird ein sero-mukös bis eitriges Exsudat diagnostiziert. Durch hinzugekommene Sekundärinfektion kann dieses Bild aber stark variieren (113).

Das histologische Bild der enzootischen Pneumonie, das heute häufig zur Diagnosestellung herangezogen wird, ist charakterisiert durch eine Peribronchitis und interstitielle Pneumonie. Dabei findet man perivaskuläre, peribronchiale, histiozytäre und lymphoplasmazelluläre Infiltrate. Es kommt zu einer Hyperplasie der peribronchialen Lymphfolikel, die das Bronchiallumen nach Art einer Bronchitis einengen können. Ist die enzootische Pneumonie bereits in einem chronischen Stadium, so kommt es zu bindegewebigen Indurationen ganzer Läppchen, zur Bindegewebshyperplasie des interstitiellen, peribronchialen und perivaskulären Gewebes (91).

Über den Erreger der enzootischen Pneumonie bestehen in der Literatur noch recht unterschiedliche Auffassungen. Sicher ausschließen kann man lediglich Bakterien. MOMBER - JÖRGENSEN (1938) konnten mit bakterienfreien Gradocolmembran-Filtraten pneumonischer Lungen bronchopneumonische Lungenveränderungen vom Typ der en-

zootischen Pneumonie hervorrufen (90).

WALDMANN und KÖBE glaubten ein Virus für die Entstehung der Ferkelgrippe verantwortlich machen zu können (71, 122). Auch aus Amerika kamen im Zusammenhang mit der Shopeschen Schweineinfluenza ähnliche Berichte. HJÄRRE et al. und anderen gelang es jedoch nachzuweisen, daß das Virus der Shopeschen Krankheit nichts mit der in Europa bekannten enzootischen Pneumonie zu tun hat (48, 57, 94). Da es auch mit den Mitteln der virologischen Technik nicht gelang, den Erreger eindeutig nachzuweisen, war die Bezeichnung "Viruspneumonie" problematisch. Darum sprach man in den fünfziger Jahren von einem infektiösen Agens, das die Ferkelgrippe verursachen sollte.

Als WESSLÉN und LANNEK (1954) ein solches Agens, das sie SEP-Agens (swine-enzootic-pneumonia-agent) nannten, in der Gewebekultur züchten konnten und nachwiesen, daß es zu den Mykoplasmen gehört, glaubte man, der Erreger der enzootischen Pneumonie wäre gefunden. Das SEP-Agens läßt sich aus Lungen, Nasenmuscheln und Nasensekret isolieren. Im Dottersack bebrüteter Hühnereier kann es gezüchtet werden (31). Die Zugehörigkeit des 200 - 250 mμ großen SEP-Agens zu den Mykoplasmen wird durch sein Wachstum auf PPLO-Nährböden und Kulturen toter Zellen bestätigt (46).

BONTSCHEFF (1961) gelang es, ein aus pneumoniekranken Ferkeln isoliertes Agens auf 5 - 6 Tage alte Hühnerembryonen zu übertragen und zu kultivieren (14). L'ECUYER et al. isolierten aus 86 Pneumonielungen von Schweinen 44-mal Mykoplasma hyorhinis. Infektionsversuche schlugen jedoch fehl (76).

GOODWIN und WITTLESTONE (1964) stellten fest, daß sich das Agens

auch in durch Erhitzen abgetöteten Gewebekulturen vermehrt. Sie forderten trotzdem weitere Beweise, bevor Mykoplasmen als Erreger der enzootischen Pneumonie gelten können (46).

Im Jahre 1966 machten MARÉ und SWITZER ein weiteres Agens für die Entstehung der Viruspneumonie der Schweine (VPP) verantwortlich. Es hatte eine Größe von 110 - 225 mμ und war gegen Chlortetracyclin empfindlich. Im Elektronenmikroskop erschien es als dichtes, rundes bis ovales Partikel. Die Vermehrung in Hühnerembryonen konnte nicht nachgewiesen werden. In Schweinelungengewebekulturen war es dagegen züchtbar. Es handelte sich um ein Mykoplasma, das die Autoren als "Mykoplasma hypopneumoniae" bezeichneten. Statt Viruspneumonie schlugen sie deshalb "mycoplasma pneumonia of swine" vor (80, 81, 82, 83).

In Reinfektionsversuchen konnte mit den isolierten Erregern jedoch gleichfalls keine eindeutige enzootische Pneumonie erzeugt werden. Durch ein schwedisches SEP-Agens ließen sich jedoch im Tierversuch teilweise klinisch und histologisch der Ferkelgrippe ähnliche Veränderungen hervorrufen (109). In einem anderen Versuch erkrankten 4 - 10 Wochen alte Schweine, die intranasal mit Mykoplasma hyorhinis infiziert worden waren, an Rhinitis und Husten. Histologisch fand man Veränderungen, die denen der enzootischen Pneumonie glichen (43).

Die Arbeiten von KLEY und MAYR sowie HARTWICH et al. (1966) über die Verbreitung von Mykoplasmen beim Schwein zeigten dann, daß sowohl Tiere mit enzootischer Pneumonie, als auch gesunde Tiere Mykoplasmenträger sind (51, 69). Diese Erkenntnis schränkt die Bedeutung der Mykoplasmenfunde bei Ferkelgrippetieren ein.

Dennoch bleibt es heute wahrscheinlich, daß die Mykoplasmen einen

ätiologischer Faktor der enzootischen Pneumonie darstellen. Erst kürzlich gelang es GOIŠ et al. mit Mykoplasma hyorhinis beim Schwein eine Pneumonie hervorzurufen, deren histologisches Bild dem der enzootischen Pneumonie glich (43).

Es ist inzwischen bekannt, daß zur Entstehung der enzootischen Pneumonie mehrere, unterschiedliche Faktoren notwendig sind. Einmal sind sie mikrobiologischen Ursprungs, zum anderen scheinen aber schlechte Umweltbedingungen für das Auftreten dieser Seuche ebenso charakteristisch zu sein (34). Erst wenn beide Faktoren zusammentreffen, ist wohl die Voraussetzung zur Entstehung der enzootischen Pneumonie gegeben.

Ob neben den Mykoplasmen noch andere mikrobielle Faktoren beteiligt sind, ist noch nicht abgeklärt. Verfrüht wäre es auf jeden Fall, die enzootische Pneumonie allein durch den Erregernachweis diagnostizieren zu wollen (101).

# C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

## I. Material und Methoden

### 1.) Auswahl des Tiermaterials

Zur Untersuchung gelangten im wesentlichen drei Gruppen von Schweinen, die unter folgenden Gesichtspunkten ausgewählt wurden:

Schlachttiere im Alter von etwa 9 - 11 Monaten aus dem Städtischen Schlachthof München. Diese Tiere erschienen klinisch gesund und unterlagen durch den Fleischbeschautierarzt keiner speziellen Maßregelung. Es wurde sorgsam darauf geachtet, daß die Lungen frei von pathologisch-anatomischen Veränderungen waren. Brüh- oder Stichlungen mußten von der Untersuchung ausgeschlossen werden.

Die zweite Versuchsgruppe bestand aus gesunden, etwa vier Wochen alten Ferkeln, die aus verschiedenen süddeutschen Schweinebetrieben angekauft wurden. Die Tiere waren klinisch gesund und zeigten auch bei der Sektion keine makroskopischen Lungenveränderungen.

In die dritte Gruppe wurden Ferkel im Alter von etwa 4 - 6 Wochen aufgenommen, die aus Schweinebeständen stammten, welche der Schweinegesundheitsdienst München als "ferkelgrippeverseucht" bezeichnete. Zum Teil waren in dieser Gruppe auch Tiere, die der Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung, Schleißheim, zur Untersuchung auf enzootische Pneumonie zugegangen waren. Für die Aufnahme in diese Tiergruppe eigneten sich besonders solche Tiere, die klinische Symptome im Sinne der enzootischen Pneumonie erkennen ließen (15, 89). Die Tiere waren im

Wachstum hinter der durchschnittlichen Wurfgröße zurückgeblieben und hatten eine graue, stumpfe, struppige Haut. Sie waren ausgesprochene "Kümmerer", die meist auch noch Nasenausfluß und Konjunktivitis zeigten. Ein wichtiges Kriterium, das die Auswahl wesentlich erleichterte, war ein kurzer, trockener Husten, den man bei vielen Tieren bei plötzlicher Bewegung beobachten konnte.

## 2.) Gewinnung und Behandlung des Untersuchungsmaterials

Die zur Untersuchung benötigten Nieren und Lungen, mußten mit größter Sorgfalt entnommen werden, da sie als Ausgangsmaterial für Gewebekulturen einen möglichst geringen Keimgehalt aufweisen sollten. Um dies zu gewährleisten, hat sich die Anwendung der im Folgenden beschriebenen Methoden bewährt.

### a) Nieren und Lungen

Zur Gewinnung der Organe sowie Seren wurden die Tiere der Gruppen 2 und 3 entweder durch einen Kopfschlag oder mit Eunarcon$^{R}$, 0, 2 ml/kg Kgw (intraperitoneal), betäubt und durch vorsichtiges Durchschneiden der Jugularen und Karotiden entblutet. Um eine Aspiration von Blut zu vermeiden, mußte besonders darauf geachtet werden, die Trachea nicht zu verletzen. Es wurde dann unter annähernd sterilen Kautelen die Körperhöhlen eröffnet, Lunge und Nieren (in geschlossener Fettkapsel) exenteriert, die Organe in sterilen Glasschalen aufbewahrt und etwa zwei Stunden später verarbeitet. Nieren und Lungen der 9 - 11 Monate alten Tiere konnten im Schlachthof direkt aus dem gerade gespaltenen Tierkörper entnommen werden, doch war hierbei besonders bei den Lungen eine Keimbesiedelung nicht

zu vermeiden.

Von allen Lungen wurden am Institut für Tierpathologie der Universität München histologische Präparate angefertigt, die zur Beurteilung, ob positiv oder negativ im Sinne der enzootischen Pneumonie, herangezogen werden konnten.

b) Serum

Das Blut wurde bei einem Teil der Ferkel durch Herzpunktion gewonnen. Dazu mußte mit einer etwa 5 cm-langen Kanüle im zweiten oder dritten, linken Interkostalraum, dicht neben dem Sternum, in caudo-dorsaler Richtung eingestochen werden; man konnte so ausreichend (etwa 20 ccm) Blut erhalten. Bei den anderen Tieren, besonders bei denen vom Schlachthof, wurde mittels eines sterilen Zentrifugenröhrchens das Blut direkt an der durchtrennten V. jugularis aufgefangen. Es wurde einige Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen, bis der Blutkuchen das Serum ausgepreßt hatte. Dann mußte es 12 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt, anschließend zentrifugiert und das überstehende Serum vorsichtig abpipettiert werden. Zur Sterilitätskontrolle wurden alle Seren auf Blutagarplatten ausgestrichen. Bis zur endgültigen Untersuchung liessen sich die Seren tiefgefroren aufbewahren.

3.) Gewebekulturzüchtung

a) Primärkulturen

Die Schweinenierenprimärkulturen (ENS) wurden aus den in Kapitel C) I. 2.) beschriebenen Nieren hergestellt. Zur Anwendung gelangte das Trypsinierungsverfahren, wie es DULBECCO, VOGT

und YOUNGNER beschrieben haben (33, 130). Die Nieren wurden im Labor von der Fett- und inneren Nierenkapsel befreit, die Rindenschicht anschließend vorsichtig abgetragen und zerkleinert. Die dreimal in PBS (phosphate-buffered-saline) gewaschenen Rindenstückchen trypsinierten (0, 25 % Trypsin in PBS = PBS-T) zunächst etwa eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur. Dieses erste Zellsubstrat mußte aber verworfen werden. Die Haupttrypsinierung erfolgte bei Zimmertemperatur über vier Stunden. Danach wurde die zellhaltige Trypsinlösung durch 4 - 6 sterile Gazelagen gefiltert und schließlich durch niedertouriges Zentrifugieren die zelligen Bestandteile vom Trypsin getrennt. Das Zellsediment wurde dreimal in PBS aufgeschwemmt und gewaschen. Die gereinigten Zellen kamen in 1, 5 %-iger Suspension zur Anzüchtung. Als Anzuchtmedium diente eine Lösung aus 78 % Earlscher Lösung, 10 % hydrolysiertes Laktalbumin (0, 5 %-ig), 10 % Kälberserum, 2 % Phenolrot, 100 I.E. Penicillin und 100 Streptomycin pro ml. Das Anzuchtmedium war vorher, zur Einstellung eines pH-Wertes von 7, 2 - 7, 4 mit $CO_2$ begast worden. Von dieser Suspension mußten 20 ml in Vierkantflaschen nach Breed-Demeter und in Rouxflaschen 80 ml abgefüllt werden. Die Anzuchtgefäße wurden im Brutschrank bei 37 $^{o}$C aufbewahrt. Der erste Mediumwechsel erfolgte drei Tage später. Nach insgesamt einer Woche war der einschichtige, dichte Zellrasen gewachsen.

Zur Herstellung von Zellkulturen aus Ferkellungen mußten die steril entnommenen Lungen von den größten Bronchien getrennt und gut zerkleinert werden. Der Gewebebrei wurde dann in einem Kolben mit PBS zwei- bis dreimal gewaschen. Die gereinigten Lungenteilchen wurden 30 Minuten bei 37 $^{o}$C im Brutschrank vortrypsiniert und der Überstand verworfen. Die Gewinnung der Kulturzellen erfolgte durch zweimaliges Trypsinieren über 2 - 3 Stunden. Beide durch Gaze filtrierte Fraktionen wurden zusammen zentrifugiert, das Sediment zwei- bis dreimal in PBS gewaschen, in etwas Earlscher

Lösung aufgenommen und ausgezählt. Die Zellaussaat in dem schon beschriebenen Anzuchtmedium betrug 500 000 Zellen pro ml. Mediumwechsel wurden je nach Bedarf am zweiten oder dritten Tag mit Anzuchtmedium oder ML-Medium + 10 % Kälberserum durchgeführt.

Zur Weiterzüchtung infektiöser Partikel und als Reagenten beim Serumneutralisationstest wurden Kälbernierenprimärkulturen benötigt. Dazu wurden Nieren gesunder Kälber aus dem Schlachthof wie die Schweinenieren vorpräpariert. Die zerkleinerte Rindenschicht trypsinierte fünf Stunden bei Zimmertemperatur. Die weitere Behandlung unterschied sich nicht von der schon beschriebenen Methode, mit der die Schweinenierenprimärkulturen angelegt wurden. In einer Konzentration von 250 000 pro ml wurden die Zellen in Anzuchtmedium aufgeschwemmt und pro Kulturröhrchen 1,5 ml abgefüllt. Am dritten Tag erfolgte ein Wechsel des Anzuchtmediums, nach 5 - 6 Tagen war der Zellrasen dicht gewachsen und die Kulturen konnten beimpft werden.

b) Subkulturen

Von den dichten Kulturen in Roux-Flaschen bzw. Vierkantflaschen wurde das Medium abgegossen und der Zellrasen mit 5 - 10 ml auf 37°C vorgewärmten PBS-T bedeckt. Bei wiederholtem Schütteln lösten sich die Zellen im Brutschrank ab. Um größere Zellverbände zu zerkleinern, wurde die Zellsuspension durchpipettiert und bei 600 - 1 000 UpM fünf Minuten abzentrifugiert. Das Sediment wurde in etwas Anzuchtmedium aufgenommen, nocheinmal gründlich pipettiert und im Volumenverhältnis 1:1 neu angezüchtet. Die Zusammensetzung der verwendeten Medien war die gleiche wie bei den Primärkulturen.

## 4.) Viruszüchtung

### a) Methoden der Anzucht

#### aa) Subkultivierungsverfahren

Die Anzüchtung von cytopathogenen Agentien wurde einmal mit Hilfe des Subkultivierungsverfahrens versucht. Dazu legt man von Primärkulturen drei- oder mehrfach aufeinanderfolgend Subkulturen an und prüft laufend auf Veränderungen in der Kultur, die auf cytopathogene Agentien hinweisen. Wenn solche Veränderungen, wie Abkugelung und Aggregatbildung, nicht zu finden waren, wurden die Kulturen nach der dritten Neuanzüchtung eingefroren und das Medium später auf Kälbernierenprimärkulturen verimpft. Die Kulturflüssigkeit diente auch als Material für die weiteren Versuche, besonders für spätere Typisierungen.

#### ab) Adsorptionsverfahren

Zum Teil wurden Medien aus Subkulturen (siehe aa), oben) auf Kälbernierenprimärkulturen weiterverimpft und bis zu zehn, in der Regel jedoch sechs laufende Passagen auf solchen Kulturen durchgeführt. Man saugt dabei von frischen Röhrchenkulturen das Medium ab und ersetzt es durch 1 ml der zu untersuchenden Kulturflüssigkeit. Darauf folgt eine Adsorption über vier Stunden bei 37 $^{o}$C im Brutschrank. Abschließend ersetzt man das Animpfmaterial wieder durch Medium. Die Kulturen wurden dann bei 37 $^{o}$C weiterbebrütet. In etlichen Fällen kam es dann zu einem klaren cytopathogenen Effekt. Wenn bis zum sechsten Tag keine Veränderungen aufgetreten waren, konnten die Kulturen eingefroren und anschließend wieder weiter verimpft werden.

ac) Organverreibungen

Bei den Lungen, die fast immer bakteriell verunreinigt waren, wurden Verreibungen angefertigt, diese mit Chloroform ausgeschüttelt und dann auf Kälbernierenprimärkulturen verimpft. Im einzelnen wurde in einem sterilen Mörser ein etwa walnußgroßes Organstück mit 2 - 3 $cm^3$ sterilem Quarzsand verrieben, der Brei dann in PBS aufgeschwemmt und bei 1 000 UpM abzentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend mit Chloroform nach Art des Chloroformtestes behandelt (87). (Siehe auch Kapitel 5.) a), Chloroformtest.)

b) Weiterzüchtung in Kälbernierenprimärkulturen

Die Weiterzüchtung einmal erfaßter cytopathogener Agentien erfolgte in primären Kälbernieren-Röhrchenkulturen. 0,5 ml infektiöser Kulturflüssigkeit wurde zu 1,5 ml Medium der neuen Kultur gegeben und dieses Medium nicht mehr entfernt. Nach 4 - 5 Tagen konnte der cytopathogene Effekt abgelesen und die Kulturen eingefroren werden.

c) Virustitrierungen

Virustitrierungen wurden auch in Kälbernieren-Röhrchenkulturen durchgeführt. Von dem in Zehnerpotenzen verdünnten Material wurden pro Verdünnungsstufe vier Kulturröhrchen mit je 0,5 ml beimpft und bis zum 14. Tag p. inf. laufend auf cytopathogene Veränderungen kontrolliert. Die Endtiter wurden nach KAERBER in $KID_{50}$ (kulturinfektiöse Dosen) berechnet.

5.) Spezifitätsprüfungen

Mit den folgenden Methoden wurde die Gruppenzugehörigkeit der isolierten cytopathogenen Agentien geprüft:

a) Chloroformtest

Der von MAYR und BÖGEL (1961) (87) beschriebene Chloroformresistenztest diente zur ersten groben Differenzierung. Unverdünntes, virushaltiges Kulturmedium wurde mit 10 % Chloroform pro analysi versetzt, eine Stunde bei 4°C geschüttelt und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am nächsten Tag folgte eine Zentrifugierung bei 3 000 UpM über eine Stunde, und eine Titrierung der wässrigen (virushaltigen) Phase. Die Titer wurden mit denen der unbehandelten Kontrollen verglichen.

b) Histologische Untersuchungen

Zum Nachweis von Einschlußkörperchen wurden von Kälbernierenzellen Deckglaskulturen (in Leighton-Röhrchen) nach den bereits beschriebenen Methoden angelegt. Die dichten Kulturen wurden mit 0,5 ml Virusmaterial beimpft und am zweiten und dritten Tag p. inf. vorsichtig aus den Leighton-tubes entnommen und gefärbt.

Vor der Färbung mußten sie kurz in Earlscher Lösung gespült und eine halbe Stunde in Bouinscher Lösung fixiert werden. Nach dreimaligem Waschen in 70 %-igem Alkohol und Spülen in Aqua dest. wurde das Präparat acht Minuten in Hämatoxilin gefärbt und anschließend zehn Minuten in fließendem Leitungswasser gewässert (bläuen). Dieser Behandlung folgte eine Färbung in Eosin, 12 - 15 Minuten lang. Nach Durchlaufen der aufsteigenden Alkoholreihe und Spülung in Xylol, wurden die Präparate mit Deckglas und Kanadabalsam eingebettet. Anschließend konnten sie im Lichtmikroskop durchmustert

werden.

c) Komplementbindungsreaktion

Die Identifizierung der isolierten, cytopathogenen Agentien wurde serologisch durch die Komplementbindungsreaktion am hiesigen Institut durchgeführt.

d) Elektronenoptische Untersuchung

In einzelnen Fällen wurden isolierte Partikel im Elektronenmikroskop untersucht und identifiziert.

6.) Serumneutralisationstest

Parallel zu den beschriebenen Virusisolierungen wurde bei allen Tieren das Serum auf neutralisierende Antikörper untersucht.

Der Neutralisationstest wurde nach der Serumverdünnungsmethode (steigende Serumverdünnungen und konstante Virusmenge von 100 $KID_{50}$ pro 0,1 ml) durchgeführt. Als Testvirus diente der Adenovirusstamm MÜNCHEN 17, siebte Passage in Kälbernierenprimärkultur. Dieser Stamm war aus der Niere eines Schlachtschweines isoliert und auf Kälbernierenkultur adaptiert worden. 100 $KID_{50}$ führten in der Kontrolle in acht Tagen zu einer totalen Lysis der Kultur.

Die Seren wurden eine halbe Stunde bei 56°C inaktiviert, ausgehend von einer Verdünnung von 1:8 in Potenzen von 2 verdünnt und die Serumverdünnungen zu gleichen Teilen mit 100 $KID_{50}$ pro 0,1 ml versetzt. Die Inkubation der Neutralisationsgemische erfolgte im Wasserbad bei 37°C eine Stunde lang. Sie wurden anschließend sofort auf Kälbernierenprimärkulturen (0,2 ml pro Röhrchen, je Verdünnungsstufe des Serums vier

Kulturen) verimpft. Hinzu kamen noch Serum- und Viruskontrollen. Die Normalserumkontrolle enthielt anstelle des zu prüfenden Serums antikörperfreies Serum derselben Tierart. Es durfte hier keine oder nur eine geringe Neutralisation eintreten. Ein positives Reaktionsergebnis wurde als signifikant anerkannt, wenn der Unterschied zur Normalserumkontrolle mindestens zwei Verdünnungsstufen betrug.

In der Viruskontrolle I wurde die Standardvirusverdünnung mit gleichen Teilen Puffer gemischt und verimpft.
In einer weiteren Viruskontrolle, der Viruskontrolle II, wurde geprüft, ob beim Neutralisationstest die gewünschte Zahl infektiöser Einheiten tatsächlich vorlag. Dazu wurde die Standardvirusverdünnung 100 $KID_{50}$ in Potenzen von 2 oder 4 weiterverdünnt und ohne Rücksicht auf die Bindungstemperatur des Neutralisationstests bis zur Überimpfung bei $4^{o}C$ gehalten. Die Kulturen wurden 14 Tage beobachtet, bevor die Titer nach der Methode von KAERBER berechnet wurden.

## 7.) Bakteriologische Prüfung

Alle Virusstämme mußten laufend auf bakterielle Sterilität geprüft werden. Dies erfolgte durch Ausstrich des Passagematerials auf Blutagarplatten. Unsterile Stämme konnten über Chloroformbehandlung oder über Filtrierung durch Millipore-Membranfilter (Millipore Filter Corporation, Bedford, Massachusetts, USA) entkeimt werden.

## II. Versuche und Ergebnisse

### 1.) Untersuchung der Seren von Schweinen verschiedenen Alters auf neutralisierende Adenovirusantikörper

Da die direkte Erregeranzüchtung allein keine genaue Aussage über den Stand der Adenovirusinfektion beim Schwein zuläßt, wurde versucht, mit Hilfe des Serumneutralisationstests ein genaues Bild über die Präsenz von Adenovirusantikörpern zu erhalten. Mit dieser Untersuchung kann man deutlich zeigen, zu welchem Zeitpunkt etwa und wie stark sich die Tiere mit diesem Virus auseinandergesetzt haben. Diese Untersuchung gibt daneben einen Anhalt, wie groß der Schutz gegen eine mögliche Adenovirusinfektion ist. Um eine Aussage über das serologische Verhalten der Schweine während eines größeren Lebensabschnittes machen zu können, wurden Tiergruppen verschiedener Altersklassen untersucht.

In diesem Zusammenhang war es besonders interessant, die Verhältnisse bei Tieren, die an enzootischer Pneumonie erkrankt waren, zu überprüfen. Hierfür wurden zusätzlich die Seren von 30 Ferkelgrippetieren auf ihren Antikörpergehalt kontrolliert.

Alle Seren wurden gegen den auf Kälbernierenkulturen adaptierten Schweineadenovirusstamm MÜNCHEN 17 getestet, als Nachweissystem wurden daher Kälbernierenprimärkulturen eingesetzt.

In einer ersten Gruppe gelangten die Seren von 40 etwa 9 - 11 Monate alten Schweinen aus dem Schlachthof München zur Untersuchung.
Im Serumneutralisationstest reagierten 26 dieser Seren positiv, 15 davon mit einem Titer über 1:32.
Die zweite Gruppe umfaßte 39 gesunde, 2 - 3 Monate alte Schweine.

29 Seren enthielten Adenovirusantikörper, davon 10 mit einem Titer zwischen 1:8 und 1:32 und 19 mit Werten über 1:32.

Unter den Seren von 30 etwa 4 Wochen alten, gesunden Ferkeln aus verschiedenen oberbayerischen Schweinezuchtbetrieben (dritte Gruppe) waren 19 positive. 10 davon wiesen einen Antikörpertiter über 1:32 auf.

Als vierte Gruppe gesunder Tiere wurden 28 etwa 2 - 3 Wochen alte Ferkel untersucht. 20 Seren hatten einen signifikanten Titer.

Diesen 4 Gruppen stand eine Sondergruppe von 30 Ferkeln gegenüber, die an enzootischer Pneumonie erkrankt waren. Von den Seren dieser Tiere reagierten im Neutralisationstest nur 8 positiv, alle hatten einen Titer unter 1:32.

Die Ergebnisse der Serumneutralisationsteste sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

| Tiergruppe | Zahl der untersuchten Seren | Im Neutralisationstest | |
|---|---|---|---|
| | | POSITIV | NEGATIV |
| Schlachtschweine aus dem Schlachthof München im Alter von 9 - 11 Monaten | 40 | 26 | 14 |
| Gesunde, 2 - 3 Monate alte Tiere aus verschiedenen Betrieben in Oberbayern | 39 | 29 | 10 |
| Gesunde, 4 Wochen alte Tiere aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 30 | 19 | 11 |
| Gesunde, 2 - 3 Wochen alte Ferkel | 28 | 20 | 8 |
| Ferkelgrippetiere etwa 4 - 6 Wochen alt aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 30 | 8 | 22 |

TABELLE 1: Ergebnis der Serumneutralisationsteste mit Seren verschiedener Gruppen von Schweinen gegen den Adenovirusstamm MÜNCHEN 17

2.) Isolierung von Adenoviren aus den Nieren von Schweinen

Von 40 Nieren aus ebensovielen gesunden Schlachtschweinen wurden Gewebekulturen in Vierkantflaschen angelegt und solange fortgesetzt subkultiviert, bis entweder durch bakterielle Kontaminierung oder infolge Ermüdung der Zellen weitere Zellpassagen nicht mehr möglich waren. In diesen Versuchen konnte oft schon nach der zweiten Subkultur eine feine Granulierung mit späterer Abkugelung der Zellen beobachtet werden. Nach der Überimpfung von Proben solcher Kulturen auf Kälbernierenprimärkulturen bildete sich in der Regel am 4. oder 5. Tag p. inf. ein deutlicher cytopathogener Effekt aus.

Gewebekulturen, die im Verlauf der Subkultivierungen keine Veränderungen zeigten, wurden abschließend ebenfalls auf Kälbernierenprimärkulturen verimpft und jeweils nach acht Tagen Beobachtung auf cytopathogene Veränderungen fortlaufend in frischen Kälbernierenkulturen weiterpassiert. In der 3. und 4. Passage traten öfter erste Zellveränderungen auf, die sich in den folgenden Passagen verstärkten, bis es schließlich zur Zellverklumpung und Lysis in der Gewebekultur kam. Es konnten auf diese Weise 16 cytopathogene Agentien isoliert werden, die durch weitere Untersuchungen näher zu bestimmen waren.

Mit Nierengewebekulturen von 32 etwa 4 Wochen alten, gesunden Ferkeln und von 35 Tieren aus Beständen, die mit enzootischer Pneumonie verseucht waren, wurde genauso verfahren.

Aus den Nieren der 32 gesunden Tiere konnten über die Anlage von Zellkulturen mit darauffolgenden Mediumpassagen in Kälbernierenkulturen keine cytopathogenen Agentien isoliert werden.

Die Nieren der kranken Tiere enthielten dagegen in zwei Fällen

infektiöse Partikel, die später klassifiziert wurden.

Einen Überblick über die Isolierungsversuche vermittelt die Tabelle 2.

| Tiergruppe | Zahl der untersuchten Tiere | Isolierungsversuch | |
|---|---|---|---|
| | | POSITIV | NEGATIV |
| Schlachtschweine aus dem Schlachthof München im Alter von 9 - 11 Monaten | 40 | 16 | 24 |
| Gesunde, 4 Wochen alte Tiere aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 32 | 0 | 32 |
| Ferkelgrippetiere etwa 4 - 6 Wochen alt aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 35 | 2 | 33 |

TABELLE 2: Isolierung cytopathogener Agentien aus Nierenkulturen von Schweinen verschiedener Gruppen

## 3.) Isolierung von Adenoviren aus Lungen von Schweinen

Auch von den Lungen der im 2. Abschnitt beschriebenen drei Tiergruppen wurden Gewebekulturen angelegt.
Von den Ferkelgrippetieren zeigten die Lungen bei der histologischen Untersuchung in 15 Fällen das typische Bild der enzootischen Pneumonie mit Proliferation der peribronchialen Lymphfolikel und histiozytärer Infiltration. Die anderen hatten eitrige Bronchiopneumonien, histiozytäre Infiltrationen und interstitielle Pneumonien. Zum Teil wurden auch Pleuritiden diagnostiziert.

In den meisten Fällen erwiesen sich die Lungenkulturen schon im Ansatz als bakteriell verunreinigt, obwohl versucht wurde, nur relativ unverändertes Lungengewebe zu verarbeiten und trotz massivem Antibiotikazusatz zum Kulturmedium, konnten viele Gewebekulturen nicht eine ausreichende Zeitspanne erhalten werden.

In diesen Fällen mußte die Isolierung von Adenoviren aus der Verreibung des Lungengewebes auf direktem Weg versucht werden. Diese Methode hatte den Vorteil, daß das Anzuchtmaterial durch eine zusätzliche Chloroformbehandlung keimfrei gemacht werden konnte.

Das Medium der Gewebekulturansätze oder das bei der Organverreibung und anschließenden Chloroformbehandlung gewonnene Material wurde auf Kälbernierenprimärkulturen verimpft. Die Kulturen wurden am 5. Tag p. inf. auf cytopathogene Veränderungen kontrolliert, nach der Kontrolle am 7. Tag eingefroren und dann wieder auf frische Kulturen verimpft. Mit diesem Methoden gelang es bei drei Tieren, die an enzootischer Pneumonie erkrankt waren, infektiöse Agentien in den Lungenpräparaten nachzuweisen.

Bei den Lungen der anderen Gruppen, -besonders interessant waren dabei die gesunden, 4 Wochen alten Ferkel, - konnten in keinem Fall Adenoviren isoliert werden. (Siehe hierzu Tabelle 3)

| Tiergruppe | Zahl der untersuchten Tiere | Isolierungsversuch | |
|---|---|---|---|
| | | POSITIV | NEGATIV |
| Schlachtschweine aus dem Schlachthof München im Alter von 9 - 11 Monaten | 15 | 0 | 15 |
| Gesunde, 4 Wochen alte Tiere aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 30 | 0 | 30 |
| Ferkelgrippetiere etwa 4 - 6 Wochen alt aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 44 | 3 | 41 |

TABELLE 3: Isolierung cytopathogener Agentien aus Schweinelungen verschiedener Tiergruppen

4.) Charakterisierung der isolierten cytopathogenen Agentien als Adenoviren durch Chloroformtest, Einschlußkörperchennachweis und Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die isolierten infektiösen Partikel wurden zuerst auf ihre Chloroformstabilität untersucht. Die Kulturvirussuspensionen zeigten dabei nach der Chloroformbehandlung keinen signifikanten Titerabfall.

Neben der Chloroformstabilität ist für Adenoviren die Bildung intranukleärer Einschlußkörperchen typisch. Zur Prüfung dieser Eigenschaft wurden mit den isolierten Erregern Deckglaskulturen infiziert und anschließend histologisch untersucht. In allen Fällen konnten die für Adenoviren kennzeichnenden Feulgen-positiven Kerneinschlüsse nachgewiesen werden. Einige typische Ergebnisse sind in den Abbildungen 1 - 4 wiedergegeben.

BILD 1: Unbeimpfte Kälbernierenprimärkultur (gefärbt)

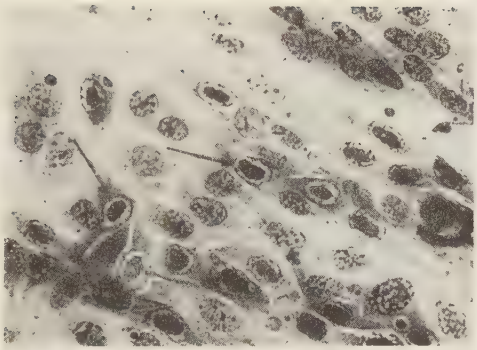

BILD 2: Kerneinschlüsse in einer mit adenovirushaltiger Kulturflüssigkeit beimpften Kälbernierenprimärkultur (gefärbt am 3. Tag p. inf.)

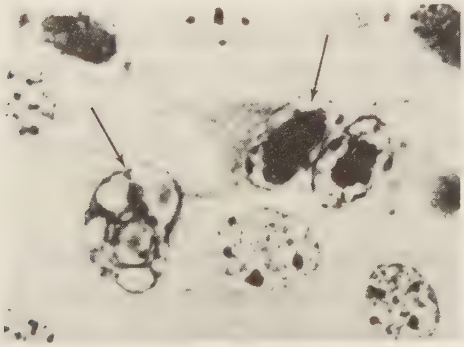

BILD 3: Zellkerne aus einer mit Adenoviren beimpften Kultur mit Vakuolenbildung und Kerneinschlüssen (gefärbt am 3. Tag p. inf.)

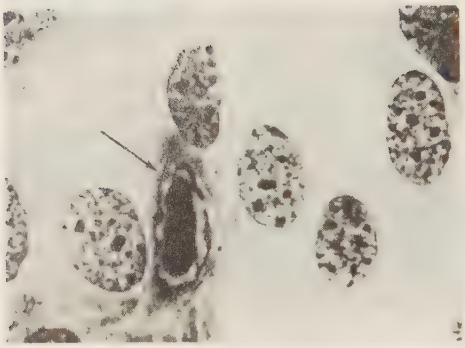

BILD 4: Intranukleäres Einschlußkörperchen aus einer mit Adenoviren infizierten Kälbernierenkultur (gefärbt am 3. Tag p. inf.)

Auf charakteristische Zelleinschlüsse wurden jeweils abschließend auch die Zellkulturen geprüft, die selbst nach längerem Kultivierungsversuch und anschließenden Mediumpassagen keinen cytopathogenen Effekt zeigten. In der Regel geschah dies nach der 4. - 6. Passage der Isolate in Kälbernierenkulturen.

Alle durch Zellkulturpassagen erfaßten Agentien, die anhand von Chloroformtest und Einschlußkörperchennachweis unter Adenovirusverdacht standen, wurden schließlich in der Komplementbindungsreaktion untersucht. In jedem Falle konnte das allen Adenoviren gemeinsame gruppenspezifische Antigen nachgewiesen werden.

Die abschließende, endgültige Typifizierung erfolgte nach einer entsprechenden Partikelanreicherung im Elektronenmikroskop.

Bei allen untersuchten Proben konnte die Diagnose auf Adenoviren durch den Nachweis typisch aufgebauter Virionen gesichert werden.

## D) BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Der direkte Erregernachweis bei einer Tierpopulation erlaubt nicht immer eine exakte Aussage über die tatsächliche Verbreitung einer Virusinfektion. Technische Schwierigkeiten, besonders bei der Virusanzüchtung, sind hierfür ausschlaggebend. Die Kultivierung von Lungengewebe als Methode zur Isolierung von Viren ist dabei besonders problematisch, da dieses Organ meist bakteriell verunreinigt ist.

Der Erfolg bei einer Erregerisolierung ist außerdem vom Infektionsstatus des Tieres zum Zeitpunkt der Organentnahme abhängig. Im Rahmen dieser Arbeit wurde deshalb versucht, neben der Virusisolierung auch mit serologischen Methoden Aufschluß über den Stand der Adenovirusinfektion beim Schwein zu erlangen.

Bei der Beurteilung des serologischen Verhaltens der einzelnen Tiergruppen kann man davon ausgehen, daß die meisten Ferkel schon über das Kolostrum Antikörper gegen Adenoviren aufnehmen (11). Infolge der weiten Verbreitung der Adenoviren besitzen ältere Tiere zu einem hohen Prozentsatz virusneutralisierende Antikörper, sodaß auch das Kolostrum von Mutterschweinen in der Regel solche enthält. Nach Untersuchungen von BIBRACK (11) ist das Serum von spf-Ferkeln (specific pathogen free) frei von Adenovirusantikörpern. Das gleiche gilt für Seren von neugeborenen Tieren vor dem ersten Saugakt. Erst nach der Aufnahme von Kolostrum steigt im Serum der Gehalt an virusneutralisierenden Antikörpern an. Dieser maternale Schutz persistiert aber nicht lange, sondern sinkt schon nach etwa vier Wochen stark ab.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen hiermit überein. In den Seren von 28 etwa 2 - 3 Wochen alten Ferkeln konnten in 71 % aller

Fälle adenovirusneutralisierende Antikörper nachgewiesen werden. Aufgrund der oben erwähnten Untersuchungen kann man annehmen, daß es sich bei diesen Antikörpern ausschließlich um maternale, mit dem Kolostrum übertragene Antikörper handelt. Ein hoher Prozentsatz unserer unter natürlichen Bedingungen aufgezogenen Ferkel besitzt demnach eine passive Immunität gegenüber Adenoviren.

Bei der zweiten Versuchsgruppe, in der die Seren von 30 etwa 4 Wochen alten Tieren untersucht wurden, reagierten im Serumneutralisationstest 63 % positiv. Auch von diesen Tieren wurden die Antikörper sicherlich passiv erworben. Anscheinend gehen die maternalen Antikörper bei den 4 Wochen alten Tieren schon deutlich zurück, denn der Prozentsatz der positiv reagierenden Ferkel (63 %) lag tiefer als jener der ersten Gruppe, wo er noch 71 % betrug.

Wie die weiteren Untersuchungsbefunde andeuten geht die passive Immunität gegen Adenoviren kontinuierlich in eine aktive Immunität über. Von 39 Seren der 2 - 3 Monate alten Schweine reagierten wieder 74 % im Neutralisationstest positiv. Bei 2/3 der Seren lag der Titer über 1:32. Diese Tiere müssen sich bereits aktiv mit dem Adenovirus auseinandergesetzt haben. Erfahrungsgemäß sind diese Infektionen subklinisch verlaufen, wobei bei vielen Tieren sicherlich Reste der mütterlichen Antikörper schützend mitwirkten.

Die 9 - 11 Monate alten Schweine zeigten serologisch ein ähnliches Verhalten; bei ihnen reagierten etwa 65 % der Seren positiv. Damit konnte nachgewiesen werden, daß auch bei den älteren Tieren die aktive Immunität gegen Adenoviren bestehen bleibt oder aber laufend erneuert wird. (Siehe Tabelle 4)

Auffällig verhielten sich in diesem Zusammenhang die Seren von 30 Schweinen, die an enzootischer Pneumonie erkrankt waren. Alle Tiere

standen im Alter von 4 - 6 Wochen. In dieser Gruppe konnten mit dem Neutralisationstest nur bei 26 % Adenovirusantikörper festgestellt werden. Auch war bei allen Tieren der Antikörpertiter wesentlich niedriger als bei den gesunden, 4 Wochen alten Tieren. Er lag stets unter 1:32. (Siehe Tabelle 5)

| Tiergruppe | Positive Reagenten | |
|---|---|---|
| | Zahl | Prozent der Gruppe |
| 40 Schlachtschweine aus dem Schlachthof München im Alter von 9 Monaten | 26 | 65,0 % |
| 39 gesunde, 2 - 3 Monate alte Tiere aus verschiedenen Betrieben in Oberbayern | 29 | 74,3 % |
| 30 gesunde, 4 Wochen alte Tiere aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 19 | 63,3 % |
| 30 Ferkelgrippetiere etwa 4 - 6 Wochen alt aus verschiedenen Betrieben in Oberbayern | 8 | 26,6 % |
| 28 gesunde, 2 - 3 Wochen alte Ferkel aus verschiedenen oberbayerischen Betrieben | 20 | 71,4 % |

TABELLE 4: Anzahl der adenovirusantikörperhaltigen Seren bei verschiedenen Tiergruppen

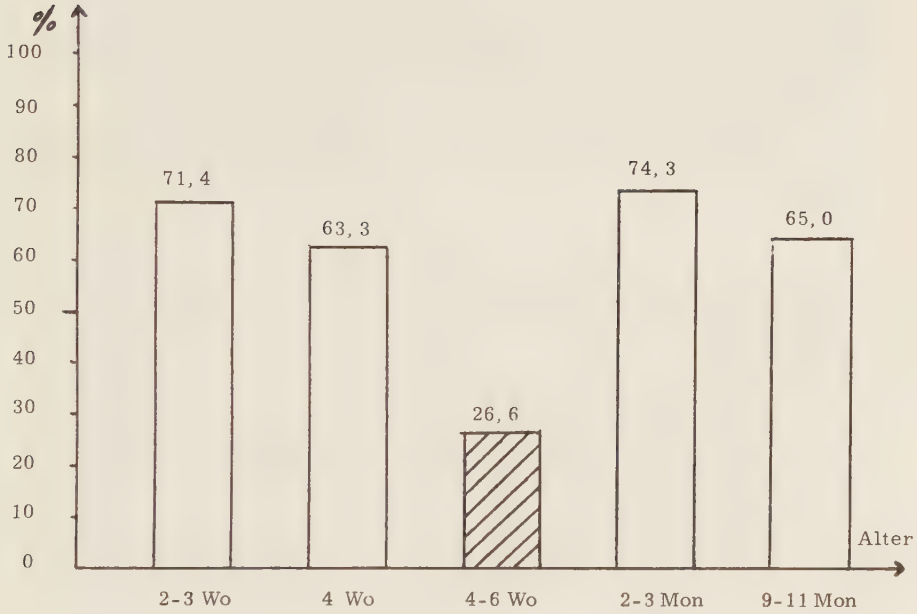


TABELLE 5: Prozentualer Anteil der im Neutralisationstest positiv reagierenden Seren von Schweinen verschiedenen Alters

= gesunde Tiere

= Ferkelgrippetiere

Im Zusammenhang mit dem serologisch auffälligen Verhalten der Ferkelgrippetiere muß diskutiert werden, ob nicht eine Beziehung zwischen einer Adenovirusinfektion und der enzootischen Pneumonie insofern besteht, als Adenoviren wegbereitend wirken. Ferkel, die über das Kolostrum eine schlechte oder keine passive Immunität erhalten haben, könnten besonders anfällig sein. Die geringen nachweisbaren Antikörper bei den Ferkelgrippetieren stützen eine solche Vermutung. Es muß aber auch daran gedacht werden, daß die abweichenden Serumbefunde bei den kranken Tieren der Ausdruck einer generell schlechten Antikörperversorgung sind, und daß diese Tiere deshalb allgemein empfänglicher für Infektionen und deshalb auch empfänglicher für die enzootische Pneumonie sind.

Zusammenhänge zwischen einer Adenovirusinfektion und der Ferkelgrippe lassen auch die Ergebnisse der Virusisolierungsversuche vermuten. So konnten aus den Nieren von 35 Ferkelgrippetieren in zwei Fällen Adenoviren gezüchtet werden. In den Lungen derselben Tiere waren in drei Fällen Adenoviren nachweisbar. Bei einer Kontrollgruppe von 30 gesunden Tieren gleichen Alters gelang auffälligerweise weder aus den Nieren noch aus den Lungen eine Erregerisolierung.

Aus Schweinenieren von 40 etwa 9 - 11 Monate alten Schlachttieren konnten in 16 Fällen Adenoviren angezüchtet werden. In den Lungen der Schlachttiere war dagegen kein Virus nachweisbar. Dieses Ergebnis bezeugt, daß Adenoviren bei Schlachtschweinen weit verbreitet sind, daß sie in den Nieren persistieren, ohne daß die Infektion klinisch manifest wird.

Nicht nur die Ergebnisse der Virusisolierungen und der Nachweis eines Antikörpermangels bei enzootisch pneumonischen Ferkeln, lassen eine Diskussion über Zusammenhänge zwischen den Adenoviren und der en-

zootischen Pneumonie gerechtfertigt erscheinen. Auch die epidemiologischen Verhältnisse sprechen für eine solche Möglichkeit. So lassen sich zum Beispiel zwischen den respiratorischen Erkrankungen des Menschen, die durch Adenoviren verursacht werden, und der enzootischen Pneumonie der Schweine auffallende epidemiologische Parallelen feststellen. Adenovirusinfektionen treten besonders oft bei Rekruten auf, also im Gefolge von Menschenansammlungen auf engstem Raum. Neu einberufene Rekruten sind dabei empfänglicher und sie erkranken auch wesentlich stärker (62). Bei der enzootischen Pneumonie der Schweine liegen die Verhältnisse ähnlich. Auch sie trifft man besonders bei Tieren an, die räumlich eng zusammenleben müssen, wie zum Beispiel in Mästereien und großen Zuchtbetrieben. Typisch ist ferner der besonders heftige Krankheitsverlauf bei jüngeren Tieren (38). Ältere Schweine haben sich mit dem Erreger schon in ihrer Jugend auseinandergesetzt und erkranken deshalb weniger heftig. Schließlich sind Adenoviren auch in beiden Populationen weit verbreitet. Dabei werden sie meist klinisch nicht manifest, obwohl sie den Organismus zur Antikörperbildung anregen. Wenn auch der Beweis nicht erbracht werden konnte, daß die Adenoviren des Schweines neben den Mykoplasmen einen ätiologischen Faktor der enzootischen Pneumonie darstellen, so konnte doch gezeigt werden, daß auffällige Beziehungen bestehen, die einem pathologischen Geschehen aber noch nicht zugeordnet werden können.

Es konnte ferner in dieser Arbeit dargestellt werden, daß Adenoviren in den süddeutschen Schweinebetrieben weit verbreitet sind. Über 2/3 der gesunden Tiere besitzen Antikörper gegen Adenoviren. Dabei wird die zunächst vorliegende passive Immunität kontinuierlich in eine aktive, humorale umgewandelt, sodaß die Tiere praktisch ständig einen gewissen Antikörperschutz besitzen. Dies mag der Grund dafür sein, daß Adenoviren beim Schwein in der Regel nur eine subklinische Infek-

tion verursachen. Wenn aber die Tiere keine kolostrale Immunität erhalten, wenn eine Agamaglobulinämie vorliegt, oder aber die passive Immunität verschwindet, bevor die aktive ausgebildet ist, kann eine Adenovirusinfektion, möglicherweise durch zusätzliche schädigende Faktoren unterstützt zu einer Erkrankung führen.

## E) ZUSAMMENFASSUNG

Um ein genaues Bild über den Stand der Adenovirusinfektion bei gesunden und an enzootischer Pneumonie erkrankten Schweinen zu erhalten, wurden zuerst die Seren von Tieren verschiedenen Alters auf adenovirusneutralisierende Antikörper untersucht. Von 28 gesunden, 2 - 3 Wochen alten Tieren hatten 20 solche Antikörper. Bei 4 Wochen alten Ferkeln reagierten 19 von 30 Seren positiv. In 29 Seren von 39 gesunden, 2 - 3 Monate alten Tieren konnten ebenfalls Antikörper gegen Adenoviren festgestellt werden, desgleichen bei 26 Seren von 40 gesunden, 9 - 11 Monate alten Schlachtschweinen.

Bei 30 Tieren, die an enzootischer Pneumonie erkrankt waren, wurden nur 8-mal neutralisierende Antikörper erfaßt. Die Titer lagen immer unter 1:32.

Die direkte Anzüchtung von Adenoviren aus den Nieren von an enzootischer Pneumonie erkrankten Tieren gelang in zwei Fällen, aus den Lungen in drei Fällen. Bei einer Kontrollgruppe von 30 gesunden Tieren, die altersmäßig etwa den Ferkelgrippetieren entsprachen, konnte weder in den Lungen noch in den Nieren ein Adenovirus nachgewiesen werden. Lediglich bei 40 gesunden Schlachtschweinen, gelang der Adenovirusnachweis in den Nieren 16-mal.

Die Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß Adenoviren in süddeutschen Schweinebetrieben weitverbreitet sind. Etwa 2/3 der Ferkel scheinen eine passive Immunität zu besitzen, die sich allmählich in eine aktive umwandelt. Dies mag der Grund dafür sein, daß Adenovirusinfektionen beim Schwein in den meisten Fällen subklinisch verlaufen.

Anhand der abweichenden serologischen und virologischen Untersuchungsbefunde bei Tieren mit enzootischer Pneumonie wurden mögliche Zusammenhänge zwischen einer Adenovirusinfektion und der Ferkelgrippe diskutiert. Trotz der auffallenden Beziehungen dieser Viren zur enzootischen Pneumonie konnte der exakte Beweis nicht erbracht werden, daß sie neben anderen ätiologischen Faktoren, wie zum Beispiel Mykoplasmen und ungünstige Umweltbedingungen, an der Entstehung der Ferkelgrippe ursächlich beteiligt sind.

SUMMARY

To get an exact survey about the situation of Adenovirus-infektion in normal and enzootic pneumonic pigs, the sera of animals of different age were at first examinated for adenovirus neutralizing antibodies.

Out of 28 normal pigs, 2 - 3 weeks old, there were 20 with such antibodies. In pigs, 4 weeks old, 19 out of 30 showed a positive reaction. In 29 sera from 39 normal pigs, 2 - 3 months old, antibodies against adenoviruses were also found. The same was true with 26 sera from normal, 9 - 11 months old swines.

In 30 pigs with enzootic pneumonia neutralizing antibodies were discovered only in 8 cases. The titers were always below 1:32.

The direct isolation of adenoviruses from the kidneys of animals with enzootic pneumonia succeeded in 2 cases, from the lungs in 3 cases. In a control group of 30 normal pigs whose age corresponded about to that of the pigs with enzootic pneumonia, neither in the lungs nor in the kidneys an adenovirus could be demonstrated. In 40 normal pigs,9 - 11 months old, however, the de-

monstration of the adenovirus in the kidneys succeeded in 16 cases.

Also the examination showed that adenoviruses are widely spread in pig stock of Southern Germany. About 2/3 of the pigs seem to have a passive immunity changing slowly into an active one. This may be the reason for the fact that adenovirus-infection in pigs take a subclinical course.

In connection with the differing serological results of examination in animals with enzootic pneumonia possible correlations between an adenovirus-infection and the enzootic pneumonia were discussed. In spite of the striking relation of these viruses to the enzootic pneumonia it could not be demonstrated exactly that the adenoviruses take a causative part in the rising of the enzootic pneumonia.

## F) LITERATURVERZEICHNIS


1.) Aldásy, P., Csontos, L., Bartha, A.: Pneumo - Enteritis bei Kälbern, verursacht durch Adenoviren. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 15 167 (1965)

2.) Andrewes, C.: Adenovirus. in Virus of Vertebrates 183 (1964)

3.) Bakos, K. und Dinter, Z.: "Das SEP - Agens", Kongreßberichte XVII Welt-Tierärzte-Kongreß Hannover 549 (1963)

4.) Bartha, A. and Aldásy, P.: Isolation of Adenovirus Strains from Calves with Virus Diarrhea. Acta veterinaria 14 239 (1964)

5.) Behrens, H., Richter, K.: Ferkelgrippe. Schweinekrankheiten und ihre Bekämpfung 18 (1963)

6.) Bell, T.M.: An Introduction to General Virology (1955)

7.) Bettinotti, C.M. und Straub, O.C.: Experimentelle Infektionen von Rindern mit humanen Adenoviren. Zbl. Bakt. I Orig. 199 427 (1966)

8.) Betts, A.O.: Respiratory Diseases of Pigs. V Some Chemical and Epidemiological Aspects of Virus Pneumonia of Pigs. Vet. Res. 64 238 (1952)

9.) Betts, A.O., Jennings, A.R., Lamont, P.H. and Page, Z.: Inoculation of Pigs with Adenovirus of Man. Nature 193 45 (1962)

10.) Berge, T.O., England, B., Mauris, C., Shney, H.E. and Lennotte, E.H.: Etiology of Acute Respiratory Disease Among Service Personel at Fort Ord, California. Am. J. Hyg. 62 283 (1955)

11.) Bibrack, B.: Untersuchungen über das Vorkommen von Adenovirus-Antikörpern bei Schweinen verschiedenen Alters. Berl. und Münch. Tierärztl. Wnsch. 81 137 (1968)

12.) Bibrack, B.: Isolierung und Charakterisierung eines Adenovirus aus Nieren vom Schwein. Vet. Med. Dissert. München (1965)

13.) Bodon, L.: Contamination of Various Hog Cholera Virus Strains with Adenoviruses or Diarrhoe Virus. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 16 321 (1966)

14.) Bontscheff, N.: Kultivierung des Ferkelpneumonie-Virus in Hühnerembryonen und Erforschung seiner Eigenschaften. Zbl. Bakt. 181 423 (1961)

15.) Both, G., Konz, A.: Ein Beitrag zur Sanierung der Schweinebestände von enzootischer Pneumonie (EPS). Tierärztl. Umsch. 21 629 (1966)

16.) Boyer, G.S., Leuchtenberger, C. and Ginsberg, H.S.: Cytological and Cytochemical Studies of HeLa Cells Infected with Adenoviruses. J. exp. Med. 105 195 (1957)

17.) Boyer, G.S., Denny, F.W. and Ginsberg, H.S.: Sequential Cellular Changes Produced by Types 5 and 7 Adenoviruses in HeLa Cells and in Human Amniotic Cells. Cytological Studies Aided by Fluorescein-labeled Antibody.

18.) Betts, A.O.: Porcine Enteroviruses. Advanc. vet. Sci. 9 225 (1964)

19.) Brandon, F.B. and Mc Lean: Adenovirus. Adv. Virus Res. 9 157 (1962)

20.) Burton, I., Wilner: A Classification of the Human and Lower Animal Viruses. Berkely, California (1964)

21.) Cabasso, V.J.: Infectious Canine Hepatitis Virus. Ann. N.Y. Acad. Sci. 101 498 (1962)

22.) Chandler, R.L.: Demonstration of a Porcine Adenovirus by Electron Microscopy. Virology 25 143 (1965)

23.) Chandler, R.L., Haig, D.A. and Smith, K.: Electron Nicroscopy of a Porcine Adenovirus. J. roy. micr. Soc. 84 133 (1965)

24.) Chanock, R.M., Hayflick, L. and Barile, M.F.: Growth on Artificial Medium of an Agent Associated with Atypical Pneumonia and its Identification as a PPLO. Nat. Acad. Sci. Proc. 48 41 (1963)

25.) Clarke, M.C., Heather, B.A., Sharpe, B.A. and Darbyshire, I.B.: Some Characteristics of Three Porcine Adenoviruses. Arch. ges. Virusforsch. 21 91 (1967)

26.) Darbyshire, J.H. et al.: Zusammenhang zwischen Adenoviren und respiratorischen Erkrankungen des Rindes. Nature 208 307 (1965)

27.) Darbyshire, I.B., Clarke, M.C. and Jessett, D.M.: Observations on the Faecal Excretion of Adenoviruses and Enteroviruses in Conventional and "minimal disease" Pigs. Vet. Rec. 79 595 (1966)

28.) Darbyshire, J.H., Pereira, H.G.: Ein präzipitierender Antikörper des Adenovirus in Seren verschiedener Tierarten und deren Beziehung zu respiratorischen Krankheiten des Rindes.

Nature 201 895 (1964)

29.) Darbyshire, I.B. et al.: Fäcale Ausscheidung von Adeno- und Enteroviren bei normalen und "minimal disease" Schweinen. Vet. Rec. 75 595 (1966)

30.) Deibel, R.: Neuere Ergebnisse bei Viren des Respirationstraktes. Ergebnisse der Mikrobiologie, Immunitätsforschung und exper. Therapie. (1963)

31.) Dinter, Z., Wesslén, T., Lannek, N.: Die Kultivierung des SEP - Agens im Dottersack des Bruteies. Zbl. Vet. Med. 4 581 (1957)

32.) Dulbecco, R.: Production of Plaques in Monolayer Tissue Cultures by Single Particles of an Animal Virus. Proc. nat. Acad. Sci. 38 747 (1952)

33.) Dulbecco, R., Vogt, M.: Monolayer Tissue Cultures. Proc. Nat. Acad. Sci. 38 376 (1952)

34.) Eikmeier, H.: Beobachtungen über die Bedeutung des Stallklimas bei der enzootischen Pneumonie. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81 7 (1968)

35.) Enders, J.F., Bell, J.A., Dingle, J.H., Francis, T.Jr., Hilleman, M.R., Huebner, R.J. and Payne, A.M.M.: "Adenoviruses", Group Name Proposed for New Respiratory-Tract Viruses. Science 124 119 (1956)

36.) Englert, H.K., Eisenack, W.: Untersuchungen über die Entwicklung von mit enzootischer Pneumonie befallenen Mastschweinen. Dtsch. Tierärztl. Wnsch. 71 119 (1964)

37.) Eikmeier, H. und Mayer, H.: Zur Frage der wirtschaftlichen Bedeutung der enzootischen Pneumonie der Schweine. Berl. u. Münch. Tierärztl. Wnsch. 78 449 (1965)

38.) Glässer, Hupka, Wetzel: Ferkelgrippe. in Krankheiten des Schweines. (1961)

39.) Ginsberg, H.S.: Biological and Physical Properties of the Adenoviruses. Ann. N.Y. Acad. Sci. 67 383 (1957)

40.) Ginsberg, H.S.: Characteristiks of the New Respiratory Viruses (Adenoviruses.) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 93 48 (1956)

41.) Ginsberg, H.S.: Identification and Classification of Adenoviruses. Virology 18 312 (1962)

42.) Ginsberg, H.S., Pereira, H.G., Valentine, R.C. and Wilcox, W.C.: A Proposed Terminology for Adenovirus Antigens and Viral Morphological Subunits.

43.) Gǒis, M., Valiček and Sovadina, M.: Mycoplasma Hyorhinis, a Causative Agent of Pig Pneumonia. Zbl. Vet. Med. B 15 230 (1968)

44.) Goodwin, R.F.W., Pomeroy, A.P., Whittlestone, P.: Production of Enzootic Pneumonia in Pigs with a Mycoplasma. Vet. Rec. 77 1274 (1965)

45.) Goodwin, R.F.W., Pomeroy, A.P., Whittlestone, P.: Characterisation of a Mycoplasma Suipneumoniae: a Mycoplasma Causing Enzootic Pneumonia of Pigs. J. Hyg. Camb. 65 85 (1967)

46.) Goodwin, R.F.W., Whittlestone, P.: Production of Enzootic Pneumonia in Pigs with Microorganism Grown in Media Free from Living Cells. Vet. Res. 76 611 (1964)

47.) Green, M. und Pina, M.: Biochemical Studies on Adenovirus Multiplication. IV Isolation, Purification and Chemical Analysis of Adenoviruses. Virology 20 199 (1963)

48.) Guliajani, T.S. and Beveridge, W.I.P.: Studies on Respiratory Diseases of Pigs IV) Transmission of Infectious Pneumonia and Its Differentiation from Swine Influenza. J. Comp. Path. & Therap. 61 118 (1951)

49.) Haig, D.A., Clark, D.C. and Pereira, M.S.: Isolation of a Adenovirus from a Pig. J. Comp. Path. 74 81 (1964)

50.) Hartley, J.W. und Rowe, W.P.: A New Mouse Virus Apparently Related to the Adenovirus Group. Virology 11 645 (1960)

51.) Hartwich, J. und Müller, M.: Über die Verbreitung von Mykoplasmen beim Schwein. Tierärztl. Umsch. 21 103 (1966)

52.) Hartwich, J. und Scheer, M.: a) Hat der Nachweis von Mykoplasma hyorhinis eine spezifische Bedeutung für die Diagnose der enzootischen Pneumonie der Schweine?
b) Über die Bedeutung von Mykoplasmen des Schweines. Tierärztl. Umsch. 22 495 (1967)

53.) Hartwigk, H.: Die enzootische Pneumonie des Schweines, eine Mykoplasmose. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 78 441 (1965)

54.) Henneberg, G., Köhler, H.: Praktikum der Virusdiagnostik. Gustav Fischer-Verlag (1961)

55.) Hennemann, E.: Experimentelle Untersuchungen über die Tenazität von Adenoviren des Schweines. Dissertation München (1968)

56.) Hillemann, M.R. and Werner, J.H.: Recovery of the New Agent from Patients with Acute Respiratory Illness. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 85 183 (1954)

57.) Hjärre, A., Dinter, Z. and Bakos, K.: Über die Züchtungsversuche mit dem Schweineinfluenzavirus (Shope) und dem Virus der enzootischen Schweinepneumonie in Vitro. Nord. Vet. Med. 6 919 (1954)

58.) Horne, R. W.: The Comperative Structure of Adenovirus. Ann. N.Y. Acad. Sci. 101 475 (1962)

59.) Horzinek, M. und Überschär, S.: Charakterisierung eines Schweineadenovirus im Zusammenhang mit Untersuchungen über das Virus der europäischen Schweinepest. Arch. ges. Virusforsch. 18 406 (1966)

60.) Huebner, R.D., Rowe, W.P., Ward, T.G., Parott, R.H. and Bell, J.A.: Adenoidal-Pharyngeal-Conjuncval Agents. A Newly Recognized Group of Common Viruses of the Respiratory System. New England J. Med. 251 1077 (1954)

61.) Jawetz, E., Kimura, S., Nicholas, A.N., Thygeson, P. and Hanna, L.: New Typ of APC-Virus from Epidemic Keratokonjunctivitis. Science 122 1190 (1955)

62.) Jawetz, E., Melnick, I.L., Adelberger, E.A.: Adenoviren, in Medizinische Mikrobiologie. 616 (1968)

63.) Kapsenberg, J.G.: Relationship of Infectious Canine Hepatitis Virus to Human Adenovirus. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 101 611 (1959)

64.) Kasza, L.: Isolation of an Adenovirus from the Brain of a Pig. Am. J. Vet. Res. 27 751 (1966)

65.) Kjellén, L. and Pereira, H. G.: Role of Adenovirus Antigens in the Induction of the Virus Neutralizing Antibody. J. gen. Virology 2 177 (1968)

66.) Klein, M.: The Relationship of Two Bovine Adenoviruses to Human Adenoviruses. Ann. N.Y. Acad. Sci. 101 493 (1962)

67.) Klein, M., Early, E. und Zellat, I.: Isolation from Cattle of a Virus Related to Human Adenoviruses. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 102 1 (1959)

68.) Klein, M., Zellat, I. und Michaelson, T.C.: A New Bovine Adenovirus Related to Human Adenovirus. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 105 340 (1960)

69.) Kley, M. und Mayr, A.: Mikrobiologische Untersuchungen von Nasentupferproben und Lungen bei der enzootischen Pneumonie der Schweine. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 78 444 (1965)

70.) Kohn, A.: Galus-adeno-like Virus in Chickens. Studies on Infection, Excretion and Immunity. Am. J. Vet. Res. 94 562 (1962)

71.) Köbe Die Ätiologie der Ferkelgrippe (enzootische Pneumonie des Ferkels). Zbl. Bakt. I Orig. 129 161 (1933)

72.) Köhler, H. und Apodaca, J.: Über die Erkennung von Adenovirusinfektionen in Schweinenierenprimärkulturen mit Hilfe histologischer Verfahren. Zbl. Bakt. I Orig. 199 338 (1966)

73.) Köhler, K.: Die chemische Zusammensetzung des Adenovirus und seine Vermehrung in der menschlichen Zelle. Zbl. Vet. Med. 14B 97 (1967)

74.) Lannek, N. and Wesslén, T.: Histological Examination of Tissue Cultures Inoculated with a Cytopathogenic Agent from Swine Enzootic Pneumonia. Acta Path. et microbiol. Scand. 36 343 (1955)

75.) Lannek, N. and Wesslén, T.: Evidence That the SEP-Agent is an Etiologic Factor in Enzootic Pneumonia in Swine. Nord. Vet. Med. 9 177 (1957)

76.) L Ecuyer, C., Switzer, W.P., Roberts, E.D.: Microbiologic Survey of Pneumonic and Normal Swine Lungs. Am. J. Vet. Res. 22 1020 (1961)

77.) Liebermann, M. and Friedman, M.: Growth Characteristics of Adenoviruses. I. Production and Release of Complement Fixing Antigen and Infectious Virus. J. Immunolog. 82 1 (1959)

78.) Mahnel, H. und Bibrack, B.: Isolierungen von Adenoviren aus Zellkulturen von Nieren normaler Schweine. Zbl. Bakt. I Orig. 199 329 (1966)

79.) Mahnel, H., Siegel, G., Bibrack, B. und Bachmann, P.A.: Zur morphologischen Charakterisierung des Schweineadenovirus. Zbl. Vet. Med. 14B 483 (1967)

80.) Maré, C.J. and Switzer, W.P.: Mycoplasma Hyopneumoniae, a Causative Agent of Virus Pig Pneumonia. Vet. Med. 60 841 (1965)

81.) Maré, C.J. and Switzer, W.P.: Viruspneumonia of Pigs: Filtration and Visualization of a Causative Agent. Am. J. Vet. Res. 27 1677 (1966)

82.) Maré, C.J. and Switzer, W.P.: Virus Pneumonia of Pigs: Drug and Ether Sensitivity of a Causative Agent. Am. J. Vet. Res. 27 1671 (1966)

83.) Maré, C. J. and Switzer, W. P.: Virus Pneumonia of Pigs: Propagation and Characterization of a Causative Agent. Am. J. Vet. Res. 27 1687 (1966)

84.) Matheka, H. D., Mayr, A. und Bögel, K.: Die Trypsinresistenzprüfung zur Differenzierung kleiner, chloroformstabiler Virusarten. Zbl. Bakt. I Orig. 187 137 (1962)

85.) Mayr, A.: Adénovirus du porc. Bull. Off. int. Epiz. 68 491 (1967)

86.) Mayr, A., Bibrack, B. und Bachmann, P. A.: Züchtung von Schweineadenoviren in Kälbernierenkulturen. Zbl. Bakt. I Orig. 203 (1967)

87.) Mayr, A. und Bögel, K.: Chloroformresistenztest zur Isolierung und Charakterisierung von Enteroviren. Zbl. Bakt. I Orig. 182 564 (1961)

88.) Monreal, G.: Untersuchungen über ein aviäres Adenovirus. Zbl. Vet. Med. 15B 685 (1968)

89.) Monreal, G., Both, G., Konz, A.: Zur Diagnose der enzootischen Pneumonie der Schweine. Zbl. Vet. Med. 11 455

90.) Momberg-Jörgensen, H. C.: Die Ätiologie der Ferkelgrippe-Infektionsversuche bakterienfreier Gradocolmembranfiltrate. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 51 573 (1938)

91.) Nieberle und Cohrs: Ferkelgrippe. Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 237 (1962)

92.) Noordaa, J. van der: Transformation of Rat Cells by Adenovirus Types 1, 2 and 3. J. gen Virology 2 303 (1968)

93.) Palynsik, M.: Untersuchungen über die Ätiologie der enzootischen Ferkelpneumonie. Acta Vet. Hung. 3 63 (1953)

94.) Pehl, K.-H., Benndorf, E.: Zur Identifizierung deutscher Ferkelgrippestämme I. Mitteilung: Über das Vorkommen von Schweineinfluenza - oder schweineinfluenzaähnlichen Stämmen in deutschen Schweinezuchten. Arch. exp. Vet. Med. 5 937 (1963)

95.) Pereira, H.G.: Adenoviruses. Brit. Med. Bull. 15 225 (1959)

96.) Pereira, H.G.: A Protein Factor Responsible for the Early Cytopathogenic Effect of Adenoviruses. Virology 6 661 (1968)

97.) Pereira, H.G. and de Figuérredo, M.V.T.: Mechanism of Hemagglutination by Adenoviruses Types 1, 2, 3, 4, 5 and 6. Virology 18 1 (1962)

98.) Pereira, H.G., Huebner, R.J., Ginsberg, H.S. und van der Veen, J.: A Short Description of the Adenovirus Group. Virology 20 613 (1963)

99.) Pereira, H.G. und Kelly, B.: Dose-response Curves of Toxic and Infective Actions of Adenovirus in HeLa Cell Cultures. J. gen. Microbiol. 17 517 (1957)

100.) Rhodes, A.J. and Rooyen, C.E. van: Textbook of Virology (1962)

101.) Rolle, M., Mayr, A.: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. 589, 726 (1966)

102.) Rosen, L.: Hemagglutination-inhibition Technique for Typing Adenoviruses. Am. J. Hyg. 71 120 (1960)

103.) Rosen, L.: Hemagglutination by Adenoviruses. Virology 5 574 (1958)

104.) Rowe, W.P. and Hartley, I.W.: A General Review of the Adenoviruses. Ann. N.Y. Acad. Sci. 101 466 (1962)

105.) Rowe, W.P., Huebner, R.J., Gilmore, L.K., Parrot, R.H. and Ward, T.G.: Isolation of a Cytopathogenic Agent from Human Adenoids Undergoing Spontaneous Degeneration in Tissue Culture. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 84 570 (1953)

106.) Rowe, W.P., Huebner, R.J., Hartley, J.W., Ward, T.C. and Parrot, R.W.: Studies of the Adenoidal-pharyngeal-conjunctival (APC) Group of Viruses. Am. J. Hyg. 61 197 (1955)

107.) Rubarth, S.: An Acute Virus Disease with Liver Lessions in Dogs (Hepatitis contagiose Canis). A Pathologico-Anatomical and Etiological Investigation. Acta Path. Microbiol. Scand. 222 (1947)

108.) Russel, W.C., Valentine, R.C. and Pereira, H.G.: The Effect of Heat on the Anatomy of Adenoviruses. J. gen. Virology I 509 (1967)

109.) Schulmann, A., Estola, T.: Experimentelle Übertragung von SEP-Agens auf Ferkel. Zbl. Vet. Med. 13B 650 (1966)

110.) Shadduck, J.A., Kasza, L. and Koestner, A.: Distribution of a Porcine Adenovirus after Inoculation of Experimental Animals. Zbl. Bakt. I Orig. 207 152 (1968)

111.) Sharpless, G. R.: GAL-Virus.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 101 515 (1962)

112.) Skatozza, F., Lolli, D.: Untersuchungen über die infektiöse Pneumopathie des Schweines. Mitt. I: Beobachtungen an einigen natürlichen Infektionsherden.
Veterinaria ital. 12 741 (1961)

113.) Skatozza, F., Di Antonio, E., Lolli, D.: Untersuchungen über die infektiöse Pneumopathie des Schweines. Mitt. III: Die Persistenz des kausalen Agens der Pneumonia enzootica in den Atemwegen und die Entwicklung der Veränderungen durch experimentelle Infektion.
Arch. Vet. ital. 14 47 (1963)

114.) Smith, K. M., Laufer, M. A.: Advances in Virus Research.
9 157 (1962)

115.) Sohier, R., Chardonnet, Y. und Prunieras, M.: Adenoviruses, Status of Current Knowledge.
Prog. Med. Virol. 7 253 (1965)

116.) Starke, G.: Virologische Praxis 47 (1965)

117.) Switzer, W. P.: Sammelreferat: Ferkelkrankheiten. (Disease of Baby Pigs).
Dt. Tierärztl. Wschr. 70 216 (1963)

118.) Trautwein, Fritzsche: Aufzuchthygiene und Aufzuchtkrankheiten der Haustiere.
86 (1962)

119.) Valentine, R. C. and Pereira, H. G.: Antigens and Structure of the Adenovirus.
J. Mol. Biol. 13 13 (1965)

120.) Veen, J. van der, and Kok, G.: Isolation and Typing of Adenoviruses Recovered from Military Recruits with Acute Respiratory Disease in the Netherlands.
Am. J. Hyg. 65 119 (1957)

121.) Vivell, O.: Virus und Rikettsieninfektionen des Menschen. J.F. Lehmann-Verlag (1965)

122.) Waldmann, E.: Die Bekämpfung der Ferkelgrippe. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 42 606 (1934)

123.) Warren, J. and Gutchins, E.C.: General Characteristics and Viral Susceptibility of Bovine Embryonic Tissue Cultures. Virology 4 297 (1957)

124.) Wassermann, F.E.: The Inactivation of Adenoviruses by Ultraviolet Irridiation and Nitrous Acid. Virology 17 335 (1962)

125.) Wesslén, T. and Lannek, N.: The Isolation and Cultivation in Tissue Culture of a Cytopathogenic Agent from Pigs with Enzootic Pneumonia (So-Called Virus Pneumonia). Nord. Vet. Med. 6 481 (1954)

126.) Wigand, R. und Bauer, H.: Über den cytopathogenen Effekt der Adenoviren des Menschen. Arch. ges. Virusforsch. 14 674 (1964)

127.) Wigand, R. und Wunn, W.: Die Vermehrung von Adenoviren der Gruppe II in HeLa Zellen. Arch. f. Virusforsch. 21 1 (1967)

128.) Wildführ, G.: Adenoviren. Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie II 818 (1961)

129.) Yamamoto, T., Marusky, R.G.: Morphological Studies of a Canine Adenovirus. J. gen. Virol. 2 191 (1968)

Youngner, I. S.: Monolayer Tissue Cultures. 1) Preparation and Standardization of Suspensious of Trypsindispersed Monkey Kidney Cells. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 85 202 (1954)

Herrn Prof. Dr. A. M A Y R möchte ich besonders herzlich für die Überlassung des Themas und seine freundliche Hilfe danken.

Fräulein Dr. B I B R A C K sowie Herrn Priv.-Doz. Dr. M A H N E L danke ich an dieser Stelle für die jederzeit bereitwillig gewährte Unterstützung.

# LEBENSLAUF

Am 13. Juli 1941 wurde ich, Heinz Anton Philipp, als Sohn des Handelslehrers Rudolf Philipp und seiner Ehefrau Margarete, geborene Schröter in Komotau im Sudetenland geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule trat ich im Jahr 1952 in die Oberrealschule Bad Reichenhall ein, dort legte ich im Sommer 1963 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1963 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Mein Studium beendete ich im Herbst 1968 mit dem Staatsexamen.

Seit April 1969 bin ich in der pharmazeutischen Industrie tätig.